

Generate Collection

L12: Entry 17 of 30

File: JPAB

Jul 8, 1997

PUB-NO: JP409176009A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 09176009 A

TITLE: NEW ANTIMUTAGENIC AGENT AND SUBSTANCE HAVING ANTIMUTAGENIC ACTION

PUBN-DATE: July 8, 1997

## INVENTOR-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

NAKASUGI, TORU

## ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

INAHATA KORYO KK

APPL-NO: JP07353452

APPL-DATE: December 27, 1995

INT-CL (IPC): A61 K 31/35; A61 K 35/78; C07 D 311/30

## ABSTRACT:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an antimutagenic agent containing a polar solvent extract of rosemary leaf free from essential oil component, having antimutagenic activity, safe to human body and effective for inhibiting carcinogenesis caused by heterocyclic amine compound.

SOLUTION: The objective agent contains an antimutagenic substance produced by extracting the leaf of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.,) with a polar solvent such as water or an alcohol after removing essential oil component from the leaf. The substance is, e.g. 5-hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone of the formula I (salvigenin) or 5,4'-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavone of the formula II (cirsimarinin).

COPYRIGHT: (C) 1997, JPO

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-176009

(43)公開日 平成9年(1997)7月8日

(51)Int.Cl.  
A 61K 31/35  
35/78  
// C 07D 311/30

識別記号 庁内整理番号

ADU

F I  
A 61K 31/35  
35/78  
C 07D 311/30

ADU  
C

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数4 FD (全14頁)

(21)出願番号 特願平7-353452

(22)出願日 平成7年(1995)12月27日

(71)出願人 390019460

稻畑香料株式会社

大阪府大阪市淀川区田川3丁目5番20号

(72)発明者 中杉 勝

大阪市淀川区田川3丁目5番20号 稲畑香  
料株式会社内

(74)代理人 弁理士 清原 義博

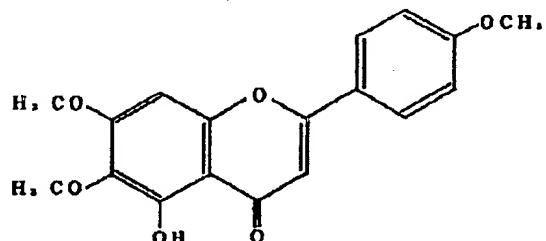
(54)【発明の名称】 新規な抗変異原剤及び抗変異原性作用物質

(57)【要約】

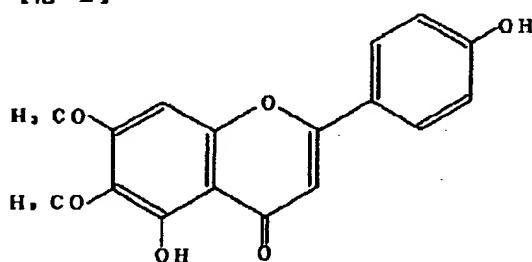
【課題】 この発明の解決課題はヘテロサイクリックアミン類による突然変異を抑制することができ且つ食用植物に由来する抗変異原性作用物質を提供し、及びこの抗変異原性作用物質を含有する抗変異原剤を提供することにある。

【解決手段】 この考案は精油成分を除去されたローズマリー (*Rosmarinus officinalis* L.) の葉から水、アルコール等の極性溶媒で抽出して得られる成分を含有することを特徴とする抗変異原剤であり、及び次式1(化1)で示される抗変異原性作用物質5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン (*salvigenin*) であり、及び次式2(化2)で示される抗変異原性作用物質5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボン (*cirsimarin*) であり、及び請求項2及び/又は請求項3に記載の抗変異原性作用物質を含有することを特徴とする抗変異原剤である。

【化 1】



【化 2】



1

2

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 精油成分を除去されたローズマリー (*Rosmarinus officinalis L.*.) の葉から水、アルコール等の極性溶媒で抽出して得られる成分を含有することを特徴とする抗変異原剤。

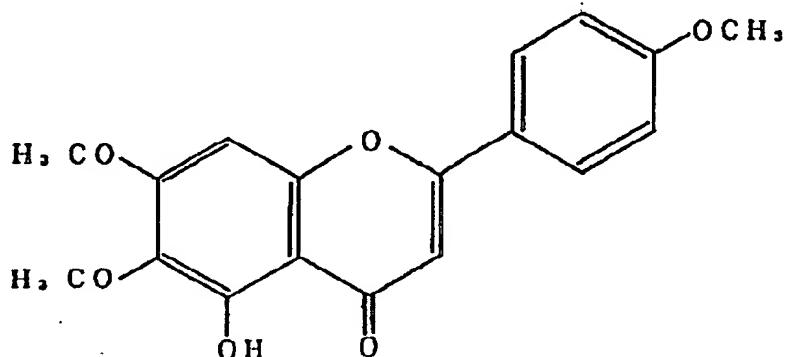
【請求項2】 次式1(化1)で示される抗変異原性作用物質5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフルラボン (*salvigenin*)。\*

\*

\*【請求項3】 次式2(化2)で示される抗変異原性作用物質5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフルラボン (*cirsimarinin*)。

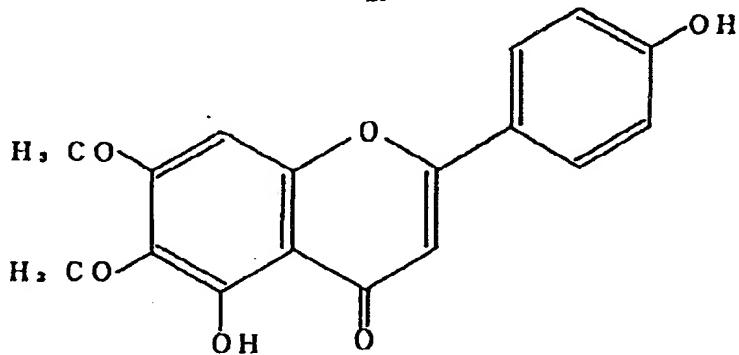
【請求項4】 請求項2及び/又は請求項3に記載の抗変異原性作用物質を含有することを特徴とする抗変異原剤。

## 【化 1】



## 【化 2】

20



## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】この発明は新規な抗変異原剤及び抗変異原性作用物質に係り、食肉や魚等の焼け焦げに含有される変異原性物質による突然変異を抑制することができる抗変異原性作用物質及びこれらを作用物質とする抗変異原剤を提供することである。

## 【0002】

【従来の技術】癌の発生は食事や喫煙といった日常習慣に深く関係している。例えばタンパク質やアミノ酸の加熱分解生成物である3-アミノ-1, 4ジメチル-5H-ピリド [4, 3b] インドール (*Trp-P-1*)、3-アミノ-1-メチル-5H-ピリド [4, 3b] インドール (*Trp-P-2*)、2-アミノ-6-メチル-ジピリド [1, 2-a : 3', 2'-d] イミダゾール (*Glu-p-1*)、2-アミノ-ジピリド [1, 2-a : 3', 2'-d] イミダゾール (*Glu-p-2*)、2-アミノ-3メチルイミダゾ [4, 5-f] キノリン (*IQ*)、2-アミノ-3, 4-ジメチルイミダゾ [50]

※ゾ [4, 5-f] キノリン (*MeIQ*) 等のヘテロサイクリックアミン類に強力な変異原性があることが知られている。これらヘテロサイクリックアミン類の内の数種はマウス、ラット、サルを使った発癌実験において高率で腫瘍を形成し、さらに人の肝臓に含まれる S-9 mix はこれらヘテロサイクリックアミン類を活性化することが知られており、人体における発癌の危険性が指摘されている。

【0003】一方、食肉や魚等タンパク質を大量に含有する食品を加熱することは一般的な料理法であり、上記ヘテロサイクリックアミン類が食品と共に体内に入る危険性は極めて高い。しかしこの対策は特に考えられておらず、食肉や魚等の焼け焦げを食べないようにするということが知られている程度であり、上記ヘテロサイクリックアミン類が人体内に入ることによる発癌の危険性は事実上放置されている。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】この発明の解決課題はヘテロサイクリックアミン類による突然変異を抑制する

3

ことができ且つ食用植物に由来する抗変異原性作用物質を提供し、及びこの抗変異原性作用物質を含有する抗変異原剤を提供することにある。

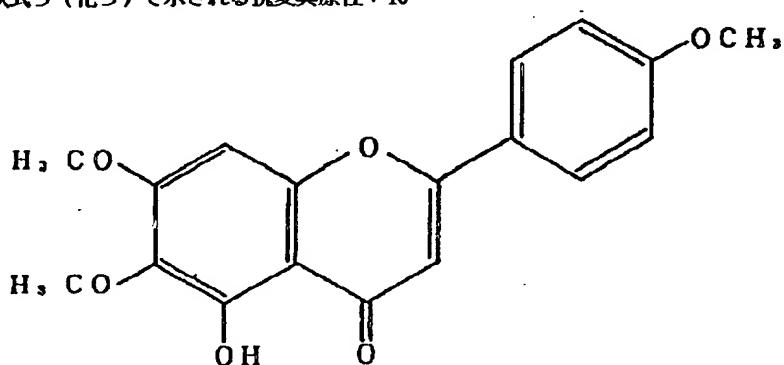
## 【0005】

【課題を解決するための手段】請求項1に記載の発明は、精油成分を除去されたローズマリー (*Rosmarinus officinalis* L.) の葉から水、アルコール等の極性溶媒で抽出して得られる成分を含有することを特徴とする抗変異原剤である。請求項2に記載の発明は、次式3(化3)で示される抗変異原性\*10

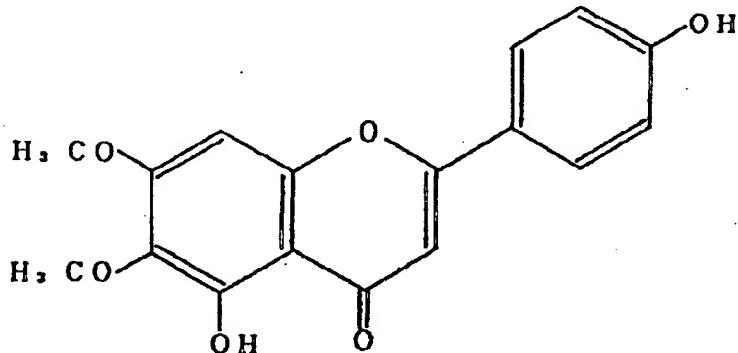
4

\*作用物質5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン (*salvigenin*) である。請求項3に記載の発明は、次式4(化4)で示される抗変異原性作用物質5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボン (*cirsimarinin*) である。請求項4に記載の発明は、請求項2及び/又は請求項3に記載の抗変異原性作用物質を含有することを特徴とする抗変異原剤である。

## 【化 3】



## 【化 4】



【0006】この発明の発明者らは植物由来の抗変異原の検索を目的とした一連の研究過程でシソ科のローズマリー (*Rosmarinus officinalis* L.) の精油除去後の葉の熱水抽出物がS-9 mix存在下でTrp-P-2によりサルモネラ菌TA 98に誘導したフレームシフト型突然変異を強く抑制することを見出した。ローズマリーに含有される癌予防効果の期待される成分としてはカーノソール等の親油性ジテルペン類が知られているがこれらは熱水では抽出されないため、今回熱水抽出物に見出された抗変異原活性はカーノソール等の親油性ジテルペン類とは異なる従来には未発見の化学物質に由来するものであると考えられる。発明者らはさらなる研究の結果、ローズマリーの熱水抽出液に含有される抗変異原性作用物質が5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン及び5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボンであることを※50

※発見し、この発見を基に抗変異原剤及び抗変異原作用物質を発明するに至った。

## 【0007】

【発明の実施の形態】この発明の実施の形態について説明する。請求項1に記載の抗変異原剤は、精油成分を除去されたローズマリーの葉から抽出される抽出物であることを必須構成としている。ローズマリー (*Rosmarinus officinalis* L.) は別名マンネンロウとも言い、従来より肉料理における香氣付けとして使用されている植物である。またその抽出液はフケを抑えるヘアシャンプーにも使用されており、さらに消化器、肝臓、胆嚢に刺激を与え、胆汁の分泌を促進するので消化不良の薬としても使用されている。またこのローズマリーの精油成分は血行を促進させるため血行障害の薬としても使用されており、さらに精油を直接頭につけて頭痛薬としても使用され、さらに抗菌作用、抗

真菌作用を有していることでも知られている。このようにローズマリーは広く一般に用いられており、このローズマリーに由来する物質は人体にとっても安全であるため、例えば料理用としても好適に使用できる。この発明においてローズマリーの葉から精油成分を除去する理由はローズマリーの精油成分は香気が強すぎるからである。つまりローズマリーの精油成分は香料としても使用されるほど香気の強い物質であり、飲食物に対して使用すると料理によってはその香気が料理を楽しむ妨げになる場合があるからである。またこの発明においては、ローズマリーの葉から水、アルコール等の極性溶媒で抽出される成分を含有することを必須構成としている。この発明において前記成分を含有することとする理由は、この成分がヘテロサイクリックアミン類による突然変異を抑制するからである。

【0008】請求項2に記載の抗変異原性作用物質5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン、及び請求項3に記載の抗変異原性作用物質5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボンは前記ローズマリーの葉から水、アルコール等極性溶媒で抽出して得ら<sup>20</sup> 【表 1】

\*れる抽出物に含有される物質である。この物質は加熱することによっても分解消滅せず、酸及び弱アルカリによっても変質せず安定に存在するので、ローズマリーの葉から熱水、酸、アルカリを用いた抽出及び濃縮操作が可能であり、この物質の単離は容易に行うことができる。またこの発明はローズマリーから抽出されたものに限定されず、例えば化学合成によって製造されたものも含む。なお5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン結晶（以下、compD-1と略す）の色は薄オレンジイエローであり、融点は188~189°Cである。5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボン結晶（以下、compD-2と略す）の色は薄クリームイエローであり、融点は259~260°Cである。表1として5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン及び5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボンの結晶の紫外線吸収スペクトル（UV）、赤外線吸収スペクトル（IR）、質量分析（EI-MS）、核磁気共鳴スペクトル（<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR）のデータを示す。

	5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン	5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボン
UV $\lambda$ MeOH $\lambda$ MeOH-AlCl <sub>3</sub> , $\lambda$ MeOH-AlCl <sub>3</sub> -HCl	nm: 329, 278 nm: 350, 288-302, 262 nm: 352, 288-302, 262	nm: 333, 275 nm: 363, 278-301, 262 nm: 355, 278-301, 262
IR $\nu$ KBr cm <sup>-1</sup>	; 3012, 2939, 2841, 1645(C=O), 1604 (C=C), 1568, 1502 (C=C), 1460, 1425, 1359	; 3138, 3030, 2978, 2945, 1653(C=O), 1597(C=C) 1560, 1495(C=C), 1456, 1358
EI-MS	; 328(M <sup>+</sup> ), 313, 299, 285, 282, 181, 153, 135, 133, 125	; 314(M <sup>+</sup> ), 299, 285, 271, 268, 181, 153
<sup>1</sup> H-NMR ( $\sigma$ : ppm, 270MHz)	; in CDCl <sub>3</sub> , 9.90(3H, s, OCH <sub>3</sub> ), 3.93(3H, s, OCH <sub>3</sub> ), 3.97(3H, s, OCH <sub>3</sub> ), 6.55, 6.58(2H, 2s, resp, H-8, H-3), 7.02(2H, dt, J=9Hz, resp, H-3', H-5'), 7.85(2H, dt, J=9Hz, H-2', H-6'), 12.78(1H, s, OH-5)	; in DMSO 3.81(3H, s, OCH <sub>3</sub> ), 4.0(3H, s, OCH <sub>3</sub> ), 6.94, 7.02(2H, 2s, H-8, H-3) 7.02(2H, d, J=9Hz, H-3', H-5'), 8.05(2H, d, J=9Hz, H-2', H-6') 10.4(1H, s, OH-4), 12.9(1H, s, OH-5)
<sup>13</sup> C-NMR ( $\sigma$ : ppm, 270MHz)	; in CDCl <sub>3</sub> , 55.5(4-OCH <sub>3</sub> ), 56.28 (7-OCH <sub>3</sub> ), 60.85 (6-OCH <sub>3</sub> ), 80.50(C-8), 104.08(C-3), 106.06 (C-10), 114.45(C-8', &C-5'), 123.45(C-1'), 127.96(C-2' &C-6'), 132.51(C-6), 152.99 (C-9), 153.17(C-5), 158.65(C-7), 162.53 (C-4'), 163.95(C-2), 182.64(C-4)	; in DMSO 56.46(7-OCH <sub>3</sub> ), 60.08 (6-OCH <sub>3</sub> ), 91.59(C-8), 102.70(C-3), 105.07 (C-10), 115.98(C-3', &C-5'), 121.1(C-1'), 128.54(C-2' &C-6'), 131.84(C-6), 152.08 (C-9), 152.63(C-5), 158.62(C-7), 161.90 (C-4'), 164.04(C-2), 182.25(C-4)

compD-1の紫外線吸収スペクトルを図1に、compD-1の赤外線吸収スペクトルを図2に、compD-1の質量分析結果を図3に、compD-2の核磁気共鳴スペクトルを図4に、compD-2の紫外線吸

※吸スペクトルを図5に、compD-2の赤外線吸収スペクトルを図6に、compD-2の質量分析結果を図7に、compD-2の核磁気共鳴スペクトルを図8にそれぞれ示す。この物質の同定は上記した分析結果と文

文献の比較により行われた。比較に用いた文献値は、  
 a) A. Ahmed, E. D. Seif, A. Amin  
 o, Abou-Donia and M. Shimizu: *生薬*, 40, 119 (1986). ; b) V. M.  
 Chari, R. J. Grayer-Barkmeij  
 er, J. B. Harborne, B. G. Oster  
 dahl, *Phytochemistry*, 20, 19  
 77 (1981). ; c) A. A. L. Mesquit  
 a, D. B. Correa, A. P. Padua, M.  
 L. O. Guedes and R. Otto: *Phy  
 tochemistry*, 25, 1255 (198  
 6). ; d) A. M. Rizk, F. M. Hammou  
 da, H. Rimpler and A. Kamei,  
*Planta Medica*, 87 (1986). ;  
 e) Y. L. Liu, D. -K. Ho, J. M. Cas  
 sady, *J. Nat. Prod.*, 55, 357 (1  
 992). ; f) T. Komiya, M. Tsuku  
 i, H. Oshio, *薬学雑誌*, 96, 841 (197  
 6). ; g) T. Komiya, Y. Naruse,  
 H. Oshio, *薬学雑誌*, 96, 855 (197  
 6). に記載されたものである。なお両化合物中のメト  
 キシ基の位置が6位であるか8位であるかの判断は、  
 J. A. Mears, T. J. Mabry: *Phyto  
 chemistry*, 11, 411 (1972). に記  
 載の紫外線吸収スペクトル中のband (1) のba  
 t h o c h r o m i c s h i f t 値の変化の差を参考に  
 して行った。

【0009】請求項4に記載の抗変異原剤は、請求項2  
 及び/又は請求項3に記載の抗変異原性作用物質を含有  
 することを必須構成とする。請求項2及び請求項3に記  
 載の抗変異原作用物質はヘテロサイクリックアミン類に  
 よる突然変異を強く抑制する作用を有しているので、こ  
 の抗変異原作用物質を含有する抗変異原剤は食肉や魚等  
 の焼け焦げに含有される発癌物質即ちヘテロサイクリック  
 アミン類による発癌を抑制する。この発明に含有される  
 他の成分としては特に限定されず、例えば香料や調味  
 量、防腐剤等が含有されていてもよく、さらに癌予防効  
 果が期待されているカーノソール等の抗酸化成分との併  
 用は特に好ましい。また請求項2及び/又は請求項3に記  
 載の抗変異原作用物質のみが水、アルコール等の溶媒  
 に溶解されているものもこの発明に含まれる。また、抗  
 変異原剤の投与剤型としては溶液状でも軟エキス状でも粉  
 末状でもよくとくに限定されない。また投与形態として  
 も特に限定されず適宜任意の賦形剤や補助剤等を加え  
 て、製剤製造の常法に従って散剤、顆粒剤、錠剤、カプ  
 セル剤、シロップ剤等の薬剤としてもよい。さらに抗変  
 異原性効果を期待した特定健康食品として、ドリンク  
 剤、ジュース等の菓子類とされてもよく、或いは焼肉用  
 あるいは焼き魚用調味料風に味付けされていても好まし  
 く、特に限定されない。なお請求項2に記載の5-ヒド

ロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン (sal  
 vigenin) は *Salvia aethiopsi  
 s*、*Salvia* (セージの一種)、*Betula n  
 igra*、*Teucrium polium*、*Ver  
 onica filiformis* に、請求項3の5,  
 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボン (c  
 irsimarinin) は *Artemisia ca  
 pilaris* (生薬インチンコウ)、*Salvia  
 palaestina* (セージの一種)、*Eriodi  
 ctyon californicum*、*Baccha  
 ris eleagnoides*、南米産生薬カルケー  
 ジャ、*Symphyopappus polystac  
 hyus* にそれぞれ含まれており、これら植物から水、  
 アルコール等の極性溶媒に抽出された抽出物も請求項4  
 の発明に含まれる。

## 【0010】

【実施例】次にこの発明の抗変異原剤を得る方法につい  
 て具体的に説明する。この実施例においては、乾燥させ  
 たローズマリーの葉を使用した。まずローズマリー乾燥  
 葉 12. 8 Kg を水蒸気蒸留することにより精油成分が  
 除去した。次いで上記水蒸気蒸留されたローズマリーの  
 葉に 61. 44 Kg のイオン交換水を加え、85°Cで4  
 時間放置して成分の抽出を行い、得られた粗抽出液を吸  
 引沪過して抽出液 40. 17 Kg を得た。この抽出液の  
 内 5. 17 Kg を凍結乾燥することにより抗変異原剤 2  
 2. 8 g を得ることができた。

【0011】次にこの発明の抗変異原性作用物質である  
 5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン  
 及び 5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラ  
 ボンを得る方法について説明する。前記ローズマリーの  
 葉の热水抽出液の内 3. 5 Kg を 3. 5 Kg になるまで減  
 圧濃縮し、この濃縮液を分画操作して水相 (1) 及び有  
 機相 (1) を得た。具体的には濃縮液を塩酸で pH 3 に  
 調整後 1. 75 Kg づつ 2 つに分け、それについて  
 2 リットルの酢酸エチルで 3 回、1 リットルの酢酸エチ  
 ルで 1 回分画操作を行い、水相 (1) と有機相 (1) に  
 分画した。

【0012】上記の操作により得られた有機相 (1) は  
 4. 79 Kg にまで減圧濃縮し、この濃縮液の内 4. 3  
 11 Kg は pH 9 においてさらに分画した。具体的には  
 前記濃縮液を 2. 155 Kg づつ 2 つに分け、それについて  
 2 リットルの 5% NaHCO<sub>3</sub> (pH 9) で分  
 画操作し、水相 (2) と有機相 (2) に分画した。この  
 内の有機相 (2) については 22. 54 g になるまで減  
 圧濃縮した。

【0013】次に前記有機相 (2) の濃縮物の内 19.  
 0 g についてシリカゲルクロマトグラフィー (シリカゲ  
 ル 420 g: MERCK 社製 Silica gel 6  
 0 No. 9385, 230~400 mesh) を行  
 い、第1液 (0~700 ml, クロロホルム溶出分

画)、及び第2液(700~3000ml, クロロホルム溶出分画)を得た。

【0014】この第1液及び第2液について含有成分を水-エタノール系溶媒で再結晶化させることにより5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボンの結晶6.0mg及び5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボンの結晶9.1mgをそれぞれ得ることができた。

#### 【0015】

【試験例】発明者らはこの抗変異原剤の効果を確認するためAmes法変法(供試培地等詳細な試験方法は特開平7-53397号公報に記載の方法を参照)を使用してサルモネラ菌に変異原物質とこの発明の抗変異原剤を与える試験を行った。以下にこの試験の結果を示し、この発明の抗変異原剤及び抗変異性作用物質がヘテロサイクリックアミン類による突然変異を抑制することを説明する。この試験にはヒスチジン要求性の変異株であるサルモネラ菌(*Salmonella typhimurium*)TA98を使用した。このサルモネラ菌TA98をSDB培地中に接種し、37℃で18時間振とう培養後、遠心分離(0℃, 3500rpm, 15分間)を行い、菌体をphosphate

bufferで懸濁し、600nmにおけるOD値が0.5になる希釈率を求めた。この懸濁率に従いphosphate buffer及びジメチルスルフォキシドで懸濁しTA98菌原液とした。なおこのTA98菌原液は抗変異原試験に使用するまで-80℃にて保存した。

【0016】この試験においては変異原物質として、Trp-p-2(和光純薬工業株式会社製)1.5μg/ml水溶液をcellulose acetateフィルター(ADVANTEC TOYO社製, Dismic 25cs, 孔径0.20μm)にて沪過濾して使用した。またこのTrp-p-2を活性化させるためにS-9mixを使用した。このS-9mixは以下の方法によって得られたものを使用した。即ち、まず7週令のSD(Sprague-Dawley)ラットの雄に誘導剤としてphenobarbital及び5, 6-\*

\*benzoflaboneを併用投与し、このラットの肝臓のホモジネートを9000×gで遠心処理して上清分画S-9を得た。次にCo factor (1)(オリエンタル酵母株式会社販売)を所定の方法により調整した。最後に蒸留水9mlに溶解したCo factor (1)(1バイアル)をS-9の1mlに加え、遠心分離(7000rpm, 15分間, 0℃)後、上清をcellulose acetateフィルター(ADVANTEC TOYO社製, Dismic 25cs, 孔径0.20μm)にて沪過濾することによりS-9mixを得た。

【0017】抗変異原試験は以下の方法により行った。即ちTA98菌原液が0.1ml、各試験液が0.1ml、Trp-p-2が0.1ml、S-9mixが50.0μl、を50℃に保温したソフトアガーボード中に加えてすばやく搅拌後、MBB寒天平板培地上に重層した。このMBB寒天平板培地を37℃にて3日間放置し、形成されたコロニー数をカウントした。なお突然変異抑制率は以下の式(式1)により求めた。

#### 【式 1】

$$\text{突然変異抑制率} (\%) = \frac{C - S}{C} \times 100$$

式中においてCは対照区のコロニー数であり、Sは試料区のコロニー数である。また、各試料溶液のTA98菌に対する生育抑制の影響を調べるため、抗変異原試験と平行して生菌数を測定した。即ち、TA98菌原液をPBで10<sup>5</sup>に段階希釈した液0.1ml及び各試料溶液を50℃に保温したソフトアガーボード中に加え前記同様に培養を行った。なお対照区として試料溶液の代わりに滅菌処理したジメチルスルフォキシドを使用した。

【0018】表2に熱水抽出物乾燥粉末についての抗変異原試験結果を示す。なおこの試験において熱水抽出物乾燥粉末はジメチルスルフォキシドによって20.0mg/ml及び10.0mg/mlに希釈して試験に用いた。

#### 【表 2】

サンプル名	サンプル量 (ng/plate)	復層変異 した菌の数 (/plate)	突然変異 抑制率 (%)	生菌数 (コロニー数/plate)
対照区	0	1828	0.0	241
熱水抽出物	2.0	95	94.8	188
熱水抽出物	1.0	313	82.9	230

この試験の結果、精油成分を除去したローズマリーの葉の熱水抽出物に強い抗変異原性作用が認められた。この試験結果からローズマリーの葉の熱水抽出物は抗変異原剤として有効であることが確認できる。

【0019】表3に5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン及び5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボンの結晶についての抗変異原試験結果を示す。なおこの試験において5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン及び5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボンの結晶はジメチルスルフォキシドによって1.0mg/ml、0.5mg/ml及び0.25mg/mlに希釈して試験に用

※7-ジメトキシフラボンの結晶についての抗変異原試験結果を示す。なおこの試験において5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン及び5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボンの結晶はジメチルスルフォキシドによって1.0mg/ml、0.5mg/ml及び0.25mg/mlに希釈して試験に用

いた。

\* \* 【表 3】

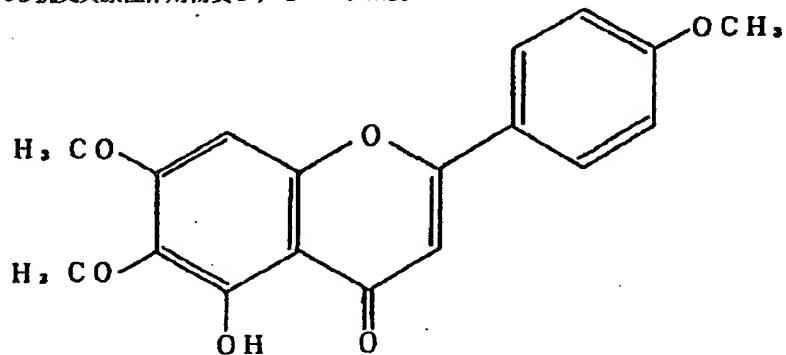
サンプル名	サンプル量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	復帰変異 した菌の数 (/plate)	突然変異 抑制率 (%)	生菌数 ( $\mu\text{g-数}/\text{plate}$ )
対照区	0	1342	0.0	222
5-ヒドロキシ- 6,7,4'- トリメトキシフラボン	100	146	89.1	113
	50	158	88.2	150
	25	241	82.0	197
5,4'- ジヒドロキシ- 6,7- トリメトキシフラボン	100	68	94.9	262
	50	93	93.1	267
	25	135	89.9	224

この試験の結果、5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン及び5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボンの結晶には強い抗変異原性作用が認められた。この試験結果から5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン及び5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボンは抗変異原性作用を有しており、この物質を含有する抗変異原剤は有効であることが確認できる。 20

## 【0020】

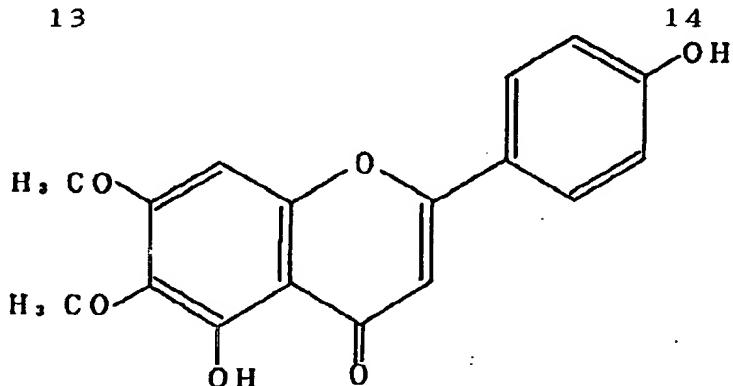
【発明の効果】この発明は、精油成分を除去されたローズマリー (*Rosmarinus officinalis* L.) の葉から水、アルコール等の極性溶媒で抽出して得られる成分を含有することを特徴とする抗変異原剤であり、及び次式5(化5)で示される抗変異原性作用物質5-ヒドロキシ-6, 7, 4'-トリメトキシフラボン (*salvigenin*) であり、及び次式6(化6)で示される抗変異原性作用物質5, 4'-ジヒドロキシ-6, 7-ジメトキシフラボン (*cirsimarin*) であり、及び請求項2及び/又は請求項3に記載の抗変異原性作用物質を含有することを特徴とする抗変異原剤であるので以下の様な優れた効果を奏する。請求項1に記載の発明はヘテロサイクリックアミン類による発癌を抑制する効果を奏する。また従来より肉料理における香気付け等に使用されているローズマリーから得られているため人体にとっても安全であり、例えば料理用としても好適に使用できる効果を奏する。また精油成分が除去されているので、飲食物に対して使用した場合、その料理を楽しむ妨げにはならないという効果を奏する。請求項2及び請求項3に記載の発明は顕著な抗変異原性効果を奏する。請求項4に記載の発明は抗変異原剤はヘテロサイクリックアミン類によって引き起こされる発癌を顕著に阻害するという効果を奏する。

【化 5】

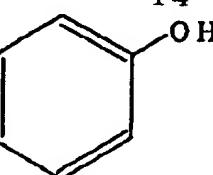


## 【化 6】

13



14



## 【図面の簡単な説明】

【図 1】c o m p D-1の紫外線吸収スペクトルである。

【図 2】c o m p D-1の赤外線吸収スペクトルである。

【図 3】c o m p D-1の質量分析結果である。

【図 4】c o m p D-2の核磁気共鳴スペクトルである。

\* 【図 5】c o m p D-2の紫外線吸収スペクトルである。

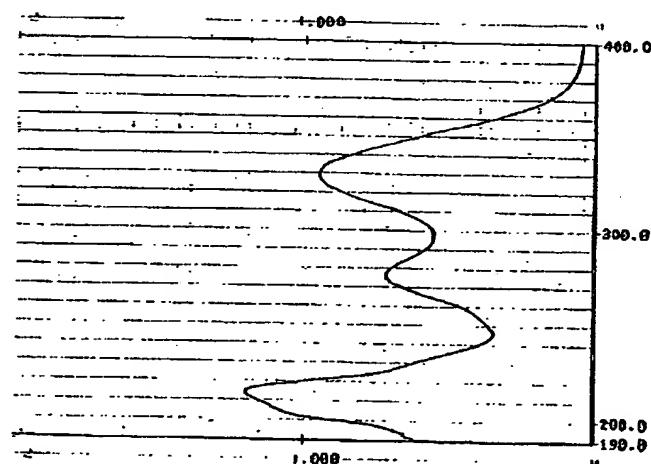
【図 6】c o m p D-2の赤外線吸収スペクトルである。

【図 7】c o m p D-2の質量分析結果である。

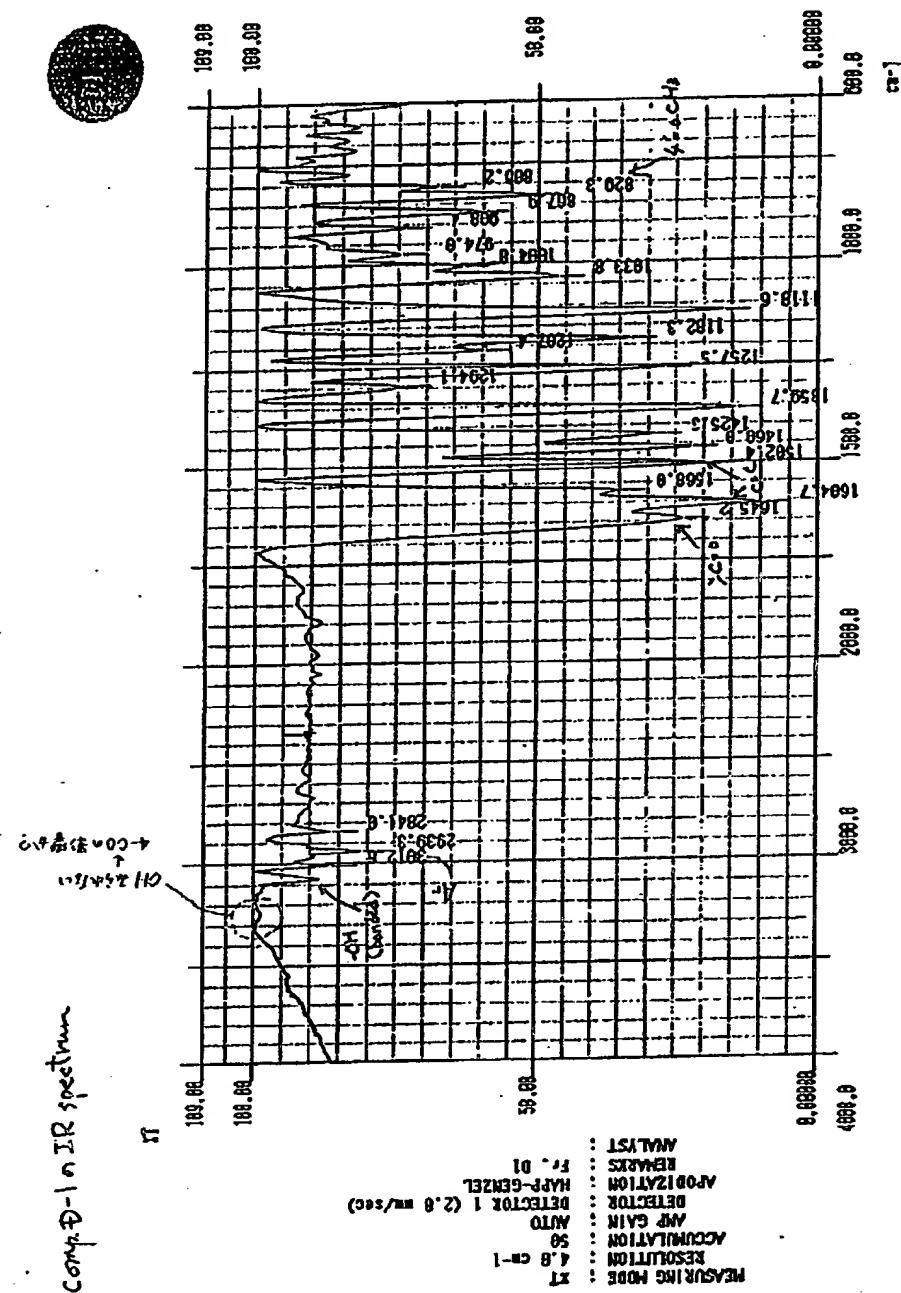
【図 8】c o m p D-2の核磁気共鳴スペクトルである。

\*

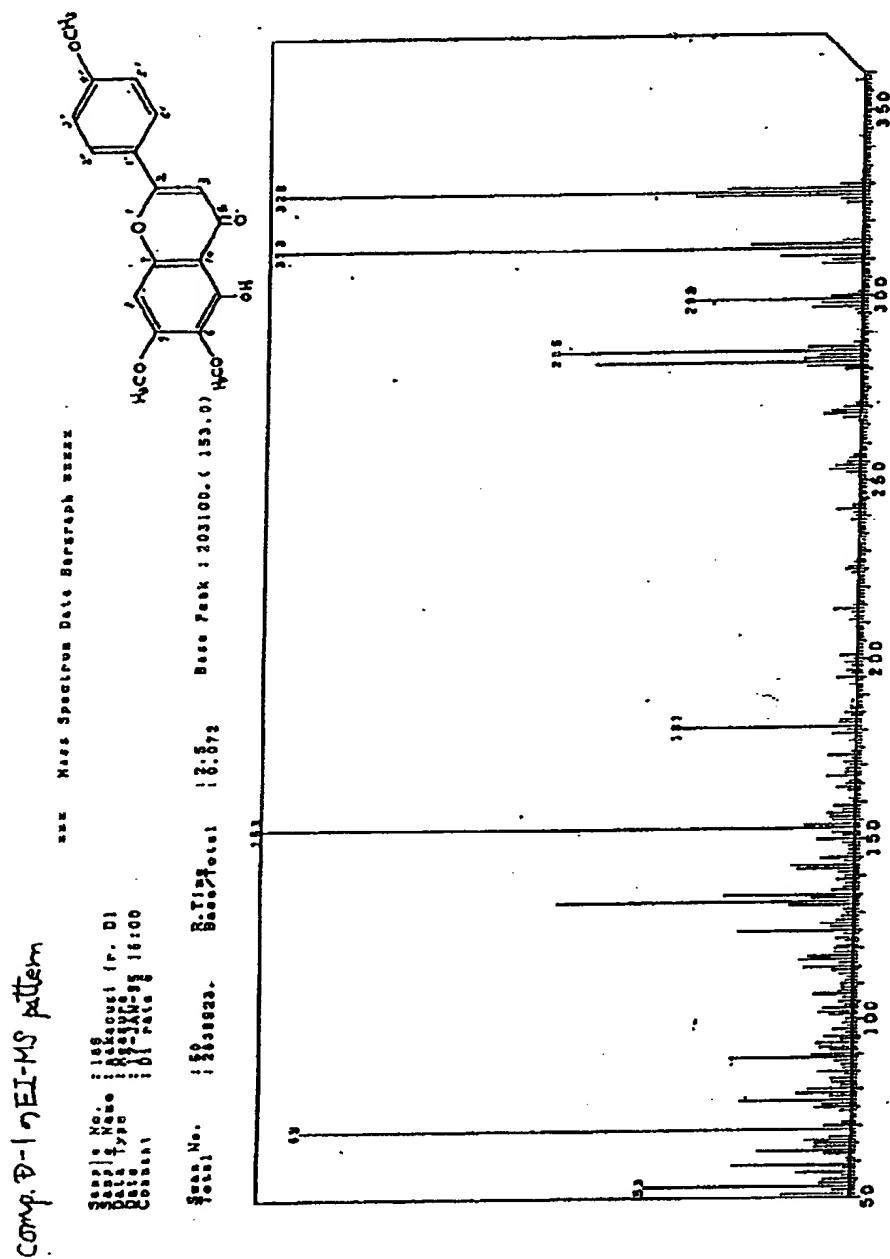
## 【図1】



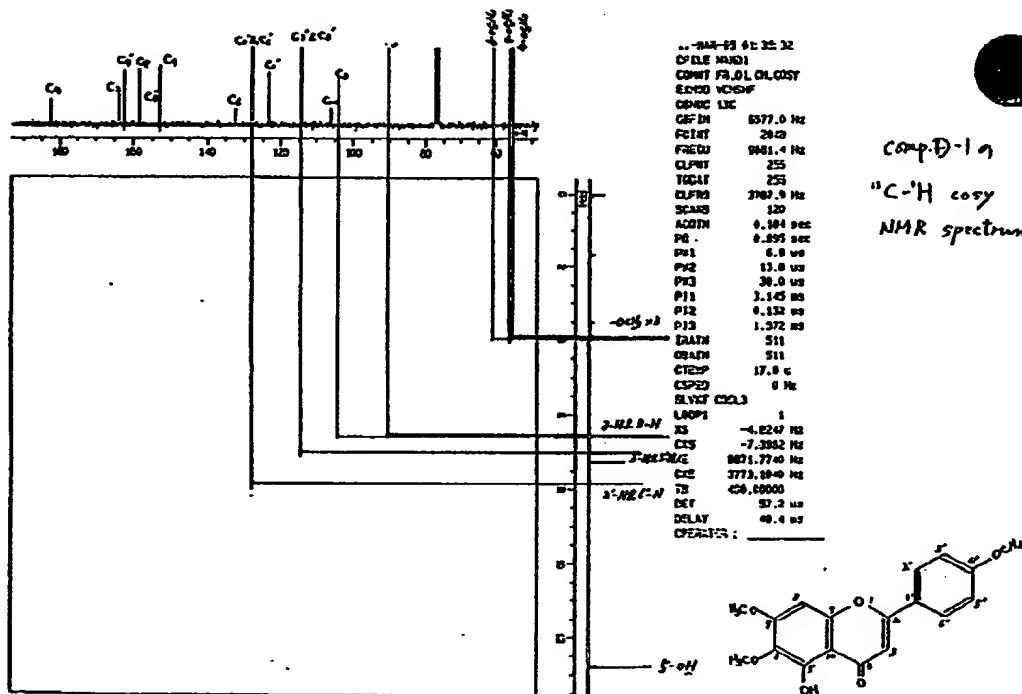
【図2】



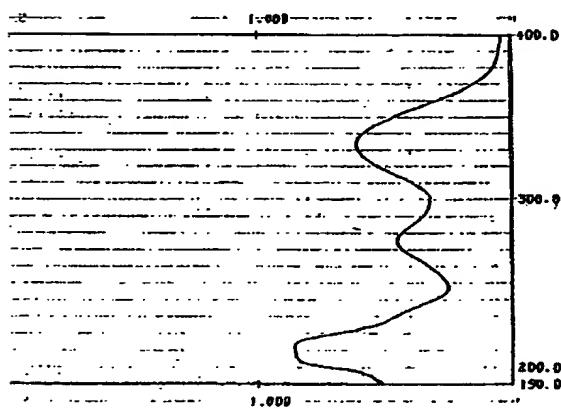
【图3】



【四】

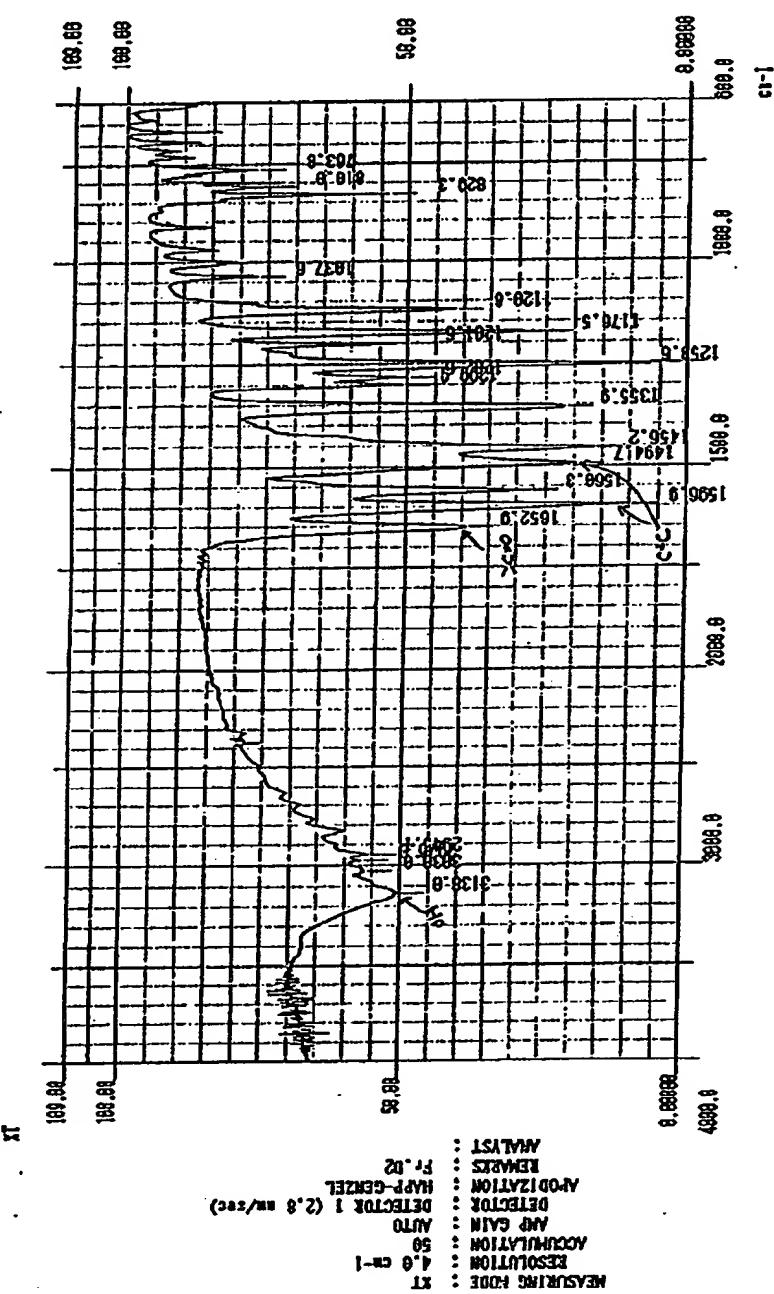


[图5]

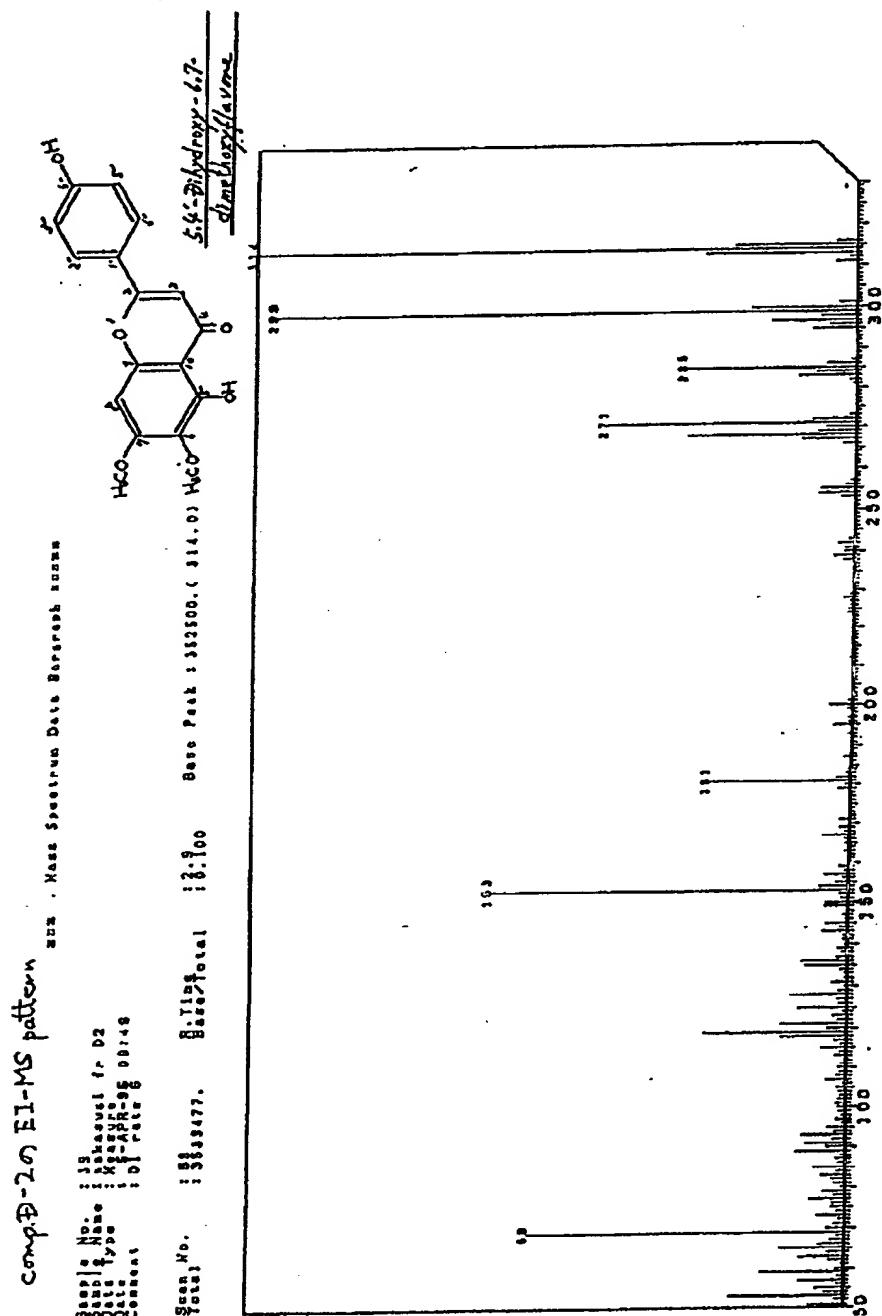


【図6】

2



【図7】



8

